

LA GERMINACION DE SEMILLAS DE *SPIRODELA* *INTERMEDIA* W. KOCH *

Por JUAN B. ROSSI **

INTRODUCCIÓN

En el presente trabajo se describe la floración de *Spirodela intermedia* y la germinación de una semilla.

La floración de las *Lemnaceas* es un hecho bastante raro, pues estas pequeñas fanerógamas están altamente adaptadas a la reproducción vegetativa. Según Hicks (1932), la tendencia evolutiva de las *Lemnaceas* ha procedido de una abundante a una escasa floración y en algunas especies hasta su pérdida total. Cualquiera sea la causa de tal adaptación a la reproducción vegetativa, las *Lemnaceas* actuales requieren condiciones muy estrictas tanto internas como externas para alcanzar el estado reproductivo sexual.

Si bien experimentalmente se ha logrado el control de la floración en diversas especies del género *Lemna*, no es posible generalizar sobre los resultados obtenidos, puesto que se ha logrado floración de una cepa de *Lemna perpusilla* (Hilman, 1960) en condiciones de días cortos, mientras que otras cepas requieren días largos. La floración en esos casos puede ser inhibida por el ácido giberélico a niveles que promueve el crecimiento vegetativo. El comportamiento con respecto al fotoperíodo depende de otras condiciones tales como la presencia o ausencia de metales en el medio o agentes quelantes. Hicks (1932) obtiene floración de *Lemna minor* var. *purpurea* y de *L. trisulca* con hidróxido de potasio y radiaciones ultravioletas, mientras que *L. valdiviana* y *Wolffia columbiana* sólo responden a las radiaciones ultravioletas. Kandeler (1955 y 1966) hace florecer a *Lemna gibba* en cul-

* Trabajo realizado en la División Biología Vegetal de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo de La Plata.

** Doctor en Ciencias Naturales.

tivos asépticos bajo días largos, pero si ilumina con luz fluorescente, la floración se produce sólo en medios de cultivos envejecidos. Landolt (1957) lo logra en variadas condiciones, incluso en la oscuridad. La sacarosa promueve la floración en unos casos y la inhibe en otros. *L. gibba* florece en medios de cultivo en los cuales se halla en floración *L. minor*, pero no lo hace sola en las mismas condiciones. En lo que respecta al género *Spirodela*, hasta donde conoce el autor, se carece de información sobre las condiciones requeridas para florecer y la bibliografía sobre casos conocidos es muy escasa (Giardelli, 1939).

Diversos autores han realizado algunas otras experiencias sobre control de la floración en *Lemnaceas* pero en la actualidad solamente puede controlarse en algunas cepas de *L. gibba* y *L. perpusilla*.

Mayores dificultades presenta el conocimiento de las condiciones necesarias para que se produzca la floración en la naturaleza. Mientras que algunas especies lo hacen con frecuencia como *L. gibba* y *L. perpusilla* (Landolt., 1957) otras como *Spirodela polyrhiza* florecen raramente, desconociéndose aún las flores de varias especies.

Es comprensible que si la floración de las *Lemnaceas* es un hecho raro, la germinación de las semillas sea también una rareza botánica. Muchas de las especies que llegan a florecer no producen frutos; las formas de resistencia están representadas por unas frondas modificadas y más pequeñas, denominadas turiones, cuyo estudio ha sido realizado por Jacobs (1947). Solamente se citan pocos casos de germinación de semillas de *Lemnaceas* y éstas corresponden a especies del género *Lemna* (Gibbert, 1937; Boldgett, 1914) y (Wilson, 1830 y Palisot de Beauvois, 1916) citados por Hicks (1932).

MATERIAL Y MÉTODO

En un acuario donde se mantenía en condiciones de laboratorio, una población salvaje de *Spirodela intermedia*, se observó que a fines del mes de enero algunas frondas mostraban signos de una próxima floración. Dicha población estaba compuesta por unas 1200 colonias de 3 a 4 frondas cada una y crecía en un medio nutriente natural proveniente del estanque de donde se obtuvo el material. Después de filtrado, su pH era de 5,8 - 6 con un contenido de 16 p.p.m. de materia orgánica. Las condiciones ambientales del laboratorio en el momento de la floración eran las siguientes: temperatura 24° - 27° C, fotoperíodo de 15 horas de luz con una intensidad máxima de 400 f.c. en las horas de mayor iluminación. Apartadas cuidadosamente las frondas en esas condiciones, 30 en total, se colocaron en un cristalizador con agua destilada; al cabo de una semana no se encontraron nuevas frondas florecidas. Quince días después se observó una pigmentación en las flores lo que indicaba su próximo final. Retiradas del cristalizador

se halló en el fondo del mismo un fruto. Nuestras observaciones sobre los procesos de floración y de fructificación para esta especie coinciden con las de Giardelli (1939), por lo cual no serán descriptas.

El fruto fue almacenado a 5° C durante sesenta días. Antes de la siembra se esterilizó con hipoclorito de Ca al 10 % durante 15 minutos y se sembró en un frasco de Erlenmeyer de 125 ml. de capacidad, conteniendo 50 ml del medio de Knop al 10 %, modificado como sigue:

(NO ₃) Ca, 4H ₂ O	100 mg
NO ₃ K	25 mg
SO ₄ Mg, 7H ₂ O	25 mg
PO ₄ H ₂ K	25 mg
EDTA Fe	1 mg
Hidrolizado de Caseína	2,5 mg
Extracto de levadura	5 mg
Agua c.s.p.	1000 ml

Se agregó además cinetina (6 Furfuril-amino-purina), hasta alcanzar una concentración de 1 µg/litro y sal potásica del ácido giberélico hasta alcanzar una concentración de 10 mg/litro, todo esterilizado en autoclave a 1 atm. de presión durante 20 minutos.

La incubación se llevó a cabo en estufa a 25°, en oscuridad, interrumpida por breves períodos de luz suministrada por un débil foco incandescente de 2,5 amperes, perteneciente al control termostático de la estufa.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Desde el momento de la siembra hasta el de la germinación, el fruto permaneció sumergido en el fondo del Erlenmeyer, ascendiendo a la superficie cuando se produjo la aparición de la fronda, posiblemente por un mecanismo semejante al descrito por Jacobs (1947) para el flotamiento de los turiones de *Spirodela polyrhiza*.

La emergencia de la fronda se produce 7 días después de la siembra, siendo muy pequeña, y creció lentamente, pero no alcanzó el tamaño normal de la especie. Posteriormente aparecieron las primeras raíces también de muy lento crecimiento. A las dos semanas fue transferida a un medio nutriente de Hutner (1953), a 1/3 de su concentración, adicionado con 1 % de sacarosa. A partir de la transferencia la fronda se multiplicó abundantemente, habiéndose efectuado hasta la fecha 10 repiques del cultivo aséptico que se mantiene en buenas condiciones.

Resumiendo, de la población original floreció aproximadamente el 1 % de las frondas y de éstas sólo se obtuvo un fruto. La única semilla germinó en las condiciones indicadas, resistió bien la esteriliza-

ción y el medio nutriente utilizado, como las condiciones de temperatura y luz existentes durante el proceso.

La germinación de *Spirodela intermedia* siguió el mismo camino que la multiplicación vegetativa, es decir, primero apareció la fronda verde y posteriormente se desarrollaron las raíces; se invierte así el orden habitual del desarrollo de los órganos embrionales de las fanérogamas.

La existencia de una sola semilla impidió ulteriores investigaciones.

Agradecimiento:

Agradezco al Ing. Agr. Enrique M. Sívori por los consejos recibidos y a la señorita Susana Ilhero por el análisis del medio nutriente utilizado.

ABSTRACT

In a non-axenic culture of *Spirodela intermedia*, flowers and a fruit were obtained in laboratory conditions. The seed was stored at 5°C during 60 days; then, it was germinated at 25°C, darkness, using dilute knop solution supplemented with casein hydrolysate, yeast extract, kinetin and gibberellin acid. It was observed that growth of the fronde preceded the elongation of roots. The culture is kept now in aseptical condition.

BIBLIOGRAFÍA

- BLODGETT, F. H., 1914. *Development of the embryo and the germination in Lemna perpusilla*. Science, 39(999): 292.
- GIARDELLI, M. L., 1939. *El florecimiento de Spirodela intermedia W. Koch*. Notas del Museo de La Plata, IV Bot., 26: 317-322.
- GILBERT, H. C., 1937. *Lemnaceae in flower*. Science 86: 308.
- HICKS, L. E., 1932. *Flower production in the Lemnaceae*. Ohio Jour. Sci. XXXIII (2): 115-131.
- HILLMAN, W. S., 1958. *Photoperiodic control of flowering in Lemna perpusilla*. Nature, 181: 1275.
- 1959a. *Experimental control of flowering in Lemna. I General methods. Photoperiodism in L. perpusilla 6746*. Am. Jour. Bot. 46: 489-495.
- 1960. *Effects of gibberellic acid on flowering, frond size and multiplication rate of Lemna perpusilla*. Phytion (Argentina) 14: 49-54.
- 1961. *The Lemnaceae or duckweeds*. Bot. Rev. 27 (2): 219-287.
- JACOBS, D. L., 1947. *An ecological life history of Spirodela polyrhiza*. Ecol. Monog. 17: 437-467.
- KANDELER, R., 1955. *Über die Blütenbildung bei Lemna gibba L. I. Kulturbedingungen und Tageslängenabhängigkeit*. Zeit. Bot. 43: 61-71.
- LANDOLT, E., 1957. *Physiologische und ökologische Untersuchungen an Lemnaceen*. Ber. Schweiz. Bot. Ges. 67: 271-410.
- PALISOT DE BEAUVOIS, A. M. F. J., 1812. *Memoire sur les Lemna, ou lentilles d'eau, sur leur fructification et sur la germination des graines*. Jour. Phys. Chim. and Hist. Nat. 82: 101-115, f. 1-23. Citado por Hicks (1932).
- SAEGER, A., 1929. *The flowering of Lemnaceae*. Bull. Torrey Bot. Club. 56: 351-458.
- WILSON, W., 1830. *Lemna gibba. Remarks on the structure and germination*. Hoocker Bo. Miscellany 1: 145-149, pl. 42, citado por Hicks (1932).